

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号： 15501  
 研究種目： 若手研究(B)  
 研究期間： 2011～2012  
 課題番号： 23700512  
 研究課題名（和文） モデルマウスを用いた熱ショック転写因子HSF2による神経変性疾患抑制機構の解析  
 研究課題名（英文） A study on the HSF2-mediated suppression mechanism of neurodegenerative diseases based on mouse models.  
 研究代表者  
 林田 直樹（HAYASHIDA NAOKI）  
 山口大学・大学院医学系研究科・講師  
 研究者番号： 40420517

### 研究成果の概要（和文）：

熱ショック転写因子（熱ショック因子）HSF2は、哺乳類では4種類存在する熱ショック因子群の1つであり、脳神経に高発現している熱ショック因子である。しかしながら、熱などのストレスに対してHSF2が細胞防御能を有するかはわかっていなかった。本助成事業により研究代表者は、神経変性疾患であるポリグルタミン病に関して、その原因蛋白質が引き起こす細胞内凝集をHSF2が抑制することを突き止めた。また、HSF2は独自の転写活性化機構を有し、変性蛋白質の分解に関与する遺伝子群を誘導することによって、細胞内凝集を抑制するという機構を見出した。

### 研究成果の概要（英文）：

The heat shock transcription factor (heat shock factor) HSF2 is an important HSF for cortical development and highly-expressed in CNS, however, whether it can suppress cellular stress and denatured protein-mediated toxicity causing neurodegenerative diseases or not. By the support of this grand-in-aid, the principal investigator revealed that HSF2 can suppress the intracellular aggregation caused by denatured or unfolded protein. We also analyzed the novel mechanism of HSF2-mediated cytoprotection. Although only HSF1 has chromatin opening and transcription activating ability among four HSFs, some of these novel HSF2 target genes were activated by HSF2 alone in the HSF1-deficient cells. These results suggest that HSF2 has the chromatin opening activity as well as HSF1, and that the induction of novel HSF2 regulated genes involved in toxic protein degradation can lead to the suppression of neurodegenerative diseases.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野： 分子生物学、実験動物学、老化学

科研費の分科・細目： 実験動物学、実験動物学

キーワード： 熱ショック因子、転写、神経変性疾患、H3K4トリメチル化、クロマチン、プロモーター、HSF1、ポリグルタミン病

#### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病などの神経変性疾患では、異常構造を持つ蛋白質が蓄積する特徴がある。熱ショック転写因子 HSF1 は、分子シャ

ペロンである Hsp を誘導して異常構造形成を抑制することが知られていたが、最近、異常構造蛋白質そのものの分解を誘導することが申請者により明らかになった。しかし、神

経変性疾患を防ぐ分子機構の解明は依然急務である。研究開始時、申請者らは、神経系で高発現している熱ショック転写因子 HSF2 について予備データを集めていたところ、HSF2 が異常構造蛋白質の蓄積を抑制する結果を得たことから、HSF2 を介した新たな神経変性疾患抑制機構の存在を考え、これを明らかにしようとした。

## 2. 研究の目的

熱ショック転写因子 HSF2 が神経変性疾患、特にアルツハイマー病とポリグルタミン病を抑制する新たな分子機構の解明を目標とした。

## 3. 研究の方法

アルツハイマー病およびポリグルタミン病を抑制する HSF2 のターゲット遺伝子を見つけ、さらに、これを HSF2 が誘導する分子機構を分子生物学的手法により明らかにしようとした。また、これらの疾患のモデルマウスを用いて、疾患抑制における HSF2 の重要性を明らかにしようとした。

## 4. 研究成果

(1) 認知症を含むタウオパチーの原因である変異型タウ蛋白質、パーキンソン病の原因となる変異型シヌクレイン蛋白質、筋萎縮性側索硬化症の原因となる変異型 SOD1 蛋白質をテトラサイクリン誘導性に高発現し、細胞内にこれらの蛋白質の凝集体を形成する HeLa 細胞株を樹立した。(2) HSF2 の過剰発現により、ポリグルタミン病の原因であるポリグルタミン (polyQ) 蛋白質の凝集を大幅に抑制出来ることを突き止めた (Shinkawa, Hayashida et al., Mol. Biol. Cell 2011)。(3) HSF2 の新たなターゲット遺伝子群を網羅的に解析し、HSF2 が細胞内蛋白質分解に関与する多くの遺伝子群を誘導していることを見出した。HSF2 と相互作用する蛋白質群の網羅的解析により、これまで報告されていない 13 種類の蛋白質が HSF2 に結合している結果を得た。中でも、転写活性化に働くヒストン H3 リジン 4 のトリメチル化に不可欠な因子である WDR5 が HSF2 と直接相互作用していることを突き止めた。(4) 脳を含む全身臓器で HSF2 を過剰発現するトランスジェニックマウスを 2 ライン樹立することに成功した。また、このマウスの複数の臓器で、今回見出した HSF2 の新たなターゲット遺伝子群の発現が上昇していることを確認し、個体レベルでも HSF2 がこれらの遺伝子群を誘導していることを明らかにした。(5) HSF2 の欠損により、polyQ 蛋白質の凝集

が亢進することを細胞レベルで突き止めた。さらに、HSF2 を欠損したハンチントン病マウスの脳内で polyQ 蛋白質の凝集体形成が亢進すること、および寿命が大幅に短縮することを見出した (Shinkawa, Hayashida et al., Mol. Biol. Cell 2011)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ①. Fujimoto, M., Takaki, E., Takii, R., Tan, K., Prakasam, R., Hayashida, N., Iemura, S., Natsume, T., and Nakai, A. (2012). RPA assists HSF1 access to nucleosomal DNA by recruiting histone chaperone FACT. *Molecular Cell*, 48, 182-194. (査読有) doi: 10.1016/j.molcel.2012.07.026.
- ②. Shinkawa, T., Tan, K., Fujimoto, M., Hayashida, N., Yamamoto, K., Takaki, E., Takii, R., Prakasam, R., Inouye, S., Mezger, V., and Nakai, A. (2011). Heat shock factor 2 is required for maintaining proteostasis against febrile range thermal stress and polyglutamine aggregation. *Molecular Biology of the Cell* 22, 3571-3583. (A highlight from MBoC selection) (査読有) doi: 10.1091/mbc.E11-04-0330.
- ③. Hayashida, N., Fujimoto, M., and Nakai, A. (2011). Transcriptional cooperativity regulated by heat shock transcription factor. *Transcription* 2, 91-94. (査読有)

[学会発表] (計 15 件)

- ①. 瀧井良祐、藤本充章、高木栄一、譚克、Prakasam Ram、松浦優基、林田直樹、中井 彰「HSF1-ATF1を介するp300/CBPのリクルートはクロマチン弛緩に必要な」第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 14 日～2012 年 12 月 16 日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ②. 藤本充章、高木栄一、瀧井良祐、譚克、Prakasam Ram、松浦優基、林田直樹、中井 彰「HSF1-RPA 複合体は腫瘍形成に必要な」第 85 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 14 日～2012 年 12 月 16 日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ③. 譚克、藤本充章、瀧井良祐、高木栄一、

- Prakasam Ram, 松浦優基, 林田直樹, 中井彰 「ミトコンドリア一本鎖DNA結合タンパク質は熱ショック応答を促進する」 第85回日本生化学会大会 2012年12月14日~2012年12月16日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ④. 林田直樹, 藤本充章, 高木栄一, 瀧井良祐, Ramachandran Prakasam, 譚克, 家村俊一郎, 夏目徹, 中井 彰 「熱ショック転写因子 HSF2 は WD40 蛋白質 WDR5 と相互作用する」 第35回日本分子生物学会 2012年12月11日~2012年12月14日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ⑤. 高木栄一, 林田直樹, 瀧井良祐, 譚克, Prakasam Ram, 松浦優基, 家村俊一郎, 夏目徹, 藤本充章, 中井 彰 「熱ショック因子HSF4のリン酸化を増強する因子の同定」 第35回日本分子生物学会 2012年12月11日~2012年12月14日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ⑥. 松浦優基, 藤本充章, 高木栄一, 瀧井良祐, 譚克, Prakasam Ram, 伍方緒, 牧野能士, 河田雅圭, 林田直樹, 中井 彰 「アノールトカゲHSF遺伝子群の分子クローニングと機能進化」 第35回日本分子生物学会 2012年12月11日~2012年12月14日 マリンメッセ福岡 (福岡)
- ⑦. Akira Nakai, Ryosuke Takii, Naoki Hayashida, Eiichi Takaki, and Mitsuaki Fujimoto 「Heat shock factors negatively regulate the inflammatory response」 The 11th International Congress of Hyperthermic Oncology, The 29th Japanese Congress of Thermal Medicine 2012年08月28日~2012年08月31日 ハイアットリージェンシー 京都 (京都)
- ⑧. 譚克, 藤本充章, 瀧井良祐, 高木栄一, Prakasam Ram, 松浦優基, 林田直樹, 中井彰 「熱ストレスに対するミトコンドリアホメオスタシスの維持機構」 第118回 (平成24年) 山口大学医学会学術講演会 2012年08月26日 山口大学医学部霜仁会館 (宇部)
- ⑨. 瀧井良祐, 藤本充章, 高木栄一, 譚克, Prakasam Ram, 林田直樹, 中井 彰 「HSF1を介するATF1-p300/CBPのリクルートは熱ショック応答の減衰を促進する」 生命素子による転写環境とエネルギー代謝のクロストーク制御 (転写代謝システム) 平成24年度班会議 2012年07月02日~2012年07月04日 つくばグラ  
ンドホテル (つくば)
- ⑩. Mitsuaki Fujimoto, Eiichi Takaki, Ryosuke Takii, Ramachandran Prakasam, Ke Tan, Naoki Hayashida, and Akira Nakai 「MAMMALIAN HEAT SHOCK FACTOR 1 GAINS ACCESS TO NUCLEOSOMAL DNA BEFORE STRESS-MEDIATED ACTIVATION」 Cold Spring Harb Symp Molecular Chaperones & Stress Responses 2012年05月01日~2012年05月05日 Cold Spring Harbor (New York), USA
- ⑪. 瀧井良祐, 藤本充章, Ramachandran Prakasam, 譚克, 高木栄一, 家村俊一郎, 夏目徹, 林田直樹, 中井 彰 「ATF1による熱ショック応答の誘導と減衰の調節」 第34回日本分子生物学会 2011年12月13日 パシフィコ横浜 (横浜)
- ⑫. 藤本充章, 高木栄一, 瀧井良祐, Prakasam Ramachandran, 譚克, 林田直樹, 家村俊一郎, 夏目 徹, 中井 彰 「HSF1-RPA複合体はヌクレオソーム構造をとるDNAにアクセスする」 第34回日本分子生物学会 2011年12月13日 パシフィコ横浜 (横浜)
- ⑬. 瀧井良祐, 藤本充章, Ramachandran Prakasam, 譚克, 高木栄一, 家村俊一郎, 夏目徹, 林田直樹, 中井 彰 「ATF1は熱ショック蛋白質の誘導に必要である」 第84回日本生化学会大会 2011年9月21日 京都国際会館 (京都)
- ⑭. 藤本充章, 高木栄一, 瀧井良祐, Prakasam Ramachandran, 譚克, 林田直樹, 家村俊一郎, 夏目 徹, 中井 彰 「HSF1-RPA複合体はHSP70遺伝子へのRNAポリメラーゼのプリロードに必要である」 第84回日本生化学会大会 2011年9月21日 京都国際会館 (京都)
- ⑮. Naoki Hayashida, Ke Tan, Toyohide Shinkawa, Mitsuaki Fujimoto, Eiichi Takaki, Ryosuke Takii, Ramachandran Prakasam, Valerie Mezger, and Akira Nakai. 「Loss of HSF2 function accelerates the accumulation of misfolded proteins upon proteotoxic stress.」 Stress Proteins in Growth, Development & Diseases, Gordon Research Conferences 2011年7月20日 Barga, Italy

[その他]  
ホームページ

<http://ds22.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~seika2/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

林田 直樹 (HAYASHIDA NAOKI)

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：40420517